



Rec'd PCT/PTO 11 MAR 2005

PCT/FR 03 / 02713

10/527664

REC'D 28 NOV 2003

WIPO PCT

# BREVET D'INVENTION

**CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION**

## COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

**29 SEP. 2003**

Fait à Paris, le \_\_\_\_\_

**DOCUMENT DE PRIORITÉ**

PRÉSENTÉ OU TRANSMIS  
CONFORMÉMENT À LA  
RÈGLE 17.1.a) OU b)

Pour le Directeur général de l'Institut  
national de la propriété industrielle  
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

BEST AVAILABLE COPY

INSTITUT  
NATIONAL DE  
LA PROPRIÉTÉ  
INDUSTRIELLE

SIEGE  
26 bis, rue de Saint Petersburg  
75800 PARIS cedex 08  
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04  
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23  
www.inpi.fr



26 bis, rue de Saint Pétersbourg - 75800 Paris Cedex 08

Pour vous informer : INPI DIRECT

0 825 83 85 87

0,15 € TTC/mn

Télécopie : 33 (0)1 53 04 52 65

Réserve à l'INPI

# BREVET D'INVENTION

## CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI



N° 11354\*03

### REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

page 1/2



Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 540 © W / 030103

#### REMISE DES PIÈCES

DATE

12 JUIN 2003

LIEU

75 INPI PARIS

N° D'ENREGISTREMENT

0307067

NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI

DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE

12 JUIN 2003

PAR L'INPI

#### Vos références pour ce dossier

(facultatif) 240696 D20622 NT

#### NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE

Cabinet REGIMBEAU  
20, rue de Chazelles  
75847 PARIS CEDEX 17  
FRANCE

#### Confirmation d'un dépôt par télécopie

☐ N° attribué par l'INPI à la télécopie

#### 2 NATURE DE LA DEMANDE

Cochez l'une des 4 cases suivantes

Demande de brevet

☒

Demande de certificat d'utilité

☐

Demande divisionnaire

☐

*Demande de brevet initiale*

N°

Date

*ou demande de certificat d'utilité initiale*

N°

Date

Transformation d'une demande de

brevet européen *Demande de brevet initiale*

☐

N°

Date

#### 3 TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)

ANTICORPS POUR ADCC ET INDUISANT LA PRODUCTION DE CYTOKINES.

#### 4 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE

Pays ou organisation FRANCE

Date 13-09-2002

N° 0211415

Pays ou organisation FRANCE

Date 13-09-2002

N° 0211416

Pays ou organisation

Date

N°

☐ S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»

#### 5 DEMANDEUR (Cochez l'une des 2 cases)

☒ Personne morale ☐ Personne physique

Nom  
ou dénomination sociale

LABORATOIRE FRANCAIS DU FRACTIONNEMENT ET DES  
BIOTECHNOLOGIES

Prénoms

Forme juridique

GROUPEMENT D'INTERET PUBLIC

N° SIREN

180036147

Code APE-NAF

Domicile  
ou  
siège

Rue

Zone d'activité de Courtaboeuf - 3, avenue des Tropiques 91940 LES ULIS

Code postal et ville

77100

Pays

FRANCE

Nationalité

Française

N° de téléphone (facultatif)

N° de télécopie (facultatif)

Adresse électronique (facultatif)

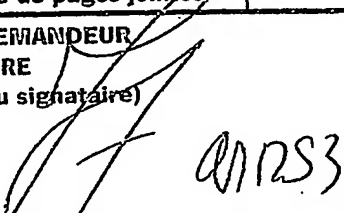
☐ S'il y a plus d'un demandeur, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»

Remplir impérativement la 2<sup>ème</sup> page

**Réservé à l'INPI**

REMISE DES PIÈCES  
DATE **12 JUIN 2003**  
LIEU **75 INPI PARIS**  
N° D'ENREGISTREMENT  
NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI **0307067**

DB 540 W / 030103

<b>6 MANDATAIRE (s'il y a lieu)</b>		240696 NT
Nom		
Prénom		
Cabinet ou Société		Cabinet REGIMBEAU
N° de pouvoir permanent et/ou de lien contractuel		
Adresse	Rue	20, rue de Chazelles
	Code postal et ville	75847 PARIS CEDEX 17
	Pays	
N° de téléphone (facultatif)		01 44 29 35 00
N° de télécopie (facultatif)		01 44 29 35 99
Adresse électronique (facultatif)		info@regimbeau.fr
<b>7 INVENTEUR (S)</b> Les inventeurs sont nécessairement des personnes physiques		
Les demandeurs et les inventeurs sont les mêmes personnes		<input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non : Dans ce cas remplir le formulaire de Désignation d'inventeur(s)
<b>8 RAPPORT DE RECHERCHE</b> Uniquement pour une demande de brevet (y compris division et transformation)		
Établissement immédiat ou établissement différé		<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Paiement échelonné de la redevance (en deux versements)		Uniquement pour les personnes physiques effectuant elles-mêmes leur propre dépôt <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
<b>9 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES</b>		Uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Requête pour la première fois pour cette invention (joindre un avis de non-imposition) <input type="checkbox"/> Obtenue antérieurement à ce dépôt pour cette invention (joindre une copie de la décision d'admission à l'assistance gratuite ou indiquer sa référence): AG <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
<b>10 SÉQUENCES DE NUCLEOTIDES ET/OU D'ACIDES AMINÉS</b>		<input type="checkbox"/> Cochez la case si la description contient une liste de séquences
Le support électronique de données est joint		<input type="checkbox"/>
La déclaration de conformité de la liste de séquences sur support papier avec le support électronique de données est jointe		<input type="checkbox"/>
Si vous avez utilisé l'imprimé «Suite», indiquez le nombre de pages jointes		
<b>11 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE</b> (Nom et qualité du signataire) 		<b>VISA DE LA PRÉFECTURE OU DE L'INPI</b>  L. MARIELLO

5 La présente invention concerne des anticorps monoclonaux chimériques humanisés ou humains qui sont produits dans des lignées cellulaires sélectionnées, lesdits anticorps présentant une forte affinité pour le récepteur CD16 des cellules effectrices du système immunitaire mais également la propriété d'induire la sécrétion de cytokines et d'interleukines, qui peuvent moduler l'activité ADCC des cellules effectrices.

10

L'immunothérapie au moyen d'anticorps monoclonaux est en passe de devenir un des aspects les plus importants de la médecine. En revanche, les résultats obtenus lors d'essais cliniques apparaissent contrastés. En effet, il peut s'avérer que l'anticorps monoclonal ne soit pas suffisamment efficace. De nombreux essais cliniques sont  
15 arrêtés pour diverses causes telles que le manque d'efficacité et des effets secondaires incompatibles avec une utilisation en thérapie clinique. Ces deux aspects sont étroitement liés sachant que des anticorps peu actifs sont administrés à forte dose pour compenser et obtenir une réponse thérapeutique. L'administration de forte dose induit non seulement des effets secondaires mais est économiquement peu viable.

20

Ces problèmes sont majeurs dans le développement industriel des anticorps monoclonaux chimériques humanisés ou humains. A titre d'exemple, la société Protein Design Labs a suspendu les essais cliniques en phase I/II du Remitogen®, qui est un anticorps anti-HLA-DR pouvant être utilisé pour traiter les cancers de cellules MHC  
25 de classe II positives, notamment les leucémies des cellules B et T.

Aujourd'hui, la recherche est orientée sur le fragment Fc $\gamma$  de l'immunoglobuline afin d'améliorer les propriétés fonctionnelles des anticorps. A terme, cela devrait permettre l'obtention d'anticorps qui interagissent et activent les récepteurs des cellules  
30 effectrices (monocytes macrophage, lymphocyte T et B, cellules NK et dendritiques).

La fixation d'un anticorps sur son ligand peut induire une activation de certaines cellules effectrices via leurs récepteurs Fc, ce qui est l'objectif de la présente invention. Nous avons trouvé qu'une des conséquences de l'activation des cellules est non seulement l'induction de propriétés fonctionnelles, comme l'ADCC ou l'activation du complément, mais aussi la production de cytokines. Ces cytokines, produites au site  
5 d'activation des effecteurs, peuvent exercer différentes activités biologiques.

Ainsi, il apparaît nécessaire de tester les propriétés des anticorps candidats à induire la production de ces facteurs modulant la réponse immunitaire. En effet, on a trouvé que  
10 l'activation des récepteurs des cellules effectrices produit des réponses très différentes conduisant à la libération d'une ou plusieurs cytokines. Ces cytokines sont responsables de l'activation ou de l'inhibition de certains composants du système immunitaire selon le cas. Il peut s'avérer par exemple qu'un même anticorps dirigé contre un antigène donné soit complètement inefficace lors qu'il est produit dans des  
15 lignées de myélome de souris, alors qu'il se montre très efficace lors qu'il est produit dans d'autres lignées cellulaires.

Par exemple, nous démontrons ici que la fixation d'un anticorps sur son ligand peut induire une activation de la cellule Jurkat transfectée CD16 avec comme conséquence  
20 la sécrétion d'IL2. Une forte corrélation est observée entre la sécrétion d'IL2 par Jurkat CD16 et l'activité ADCC médiée par le CD16 des cellules effectrices.

Nous avons montré dans notre demande WO 01/77181 (LFB) l'importance de sélectionner des lignées cellulaires permettant de produire des anticorps présentant une  
25 forte activité ADCC du type FcγRIII (CD16). Nous avons trouvé que la modification de la glycosylation du fragment constant des anticorps conduisait à améliorer l'activité ADCC dans des lignées de myélomes de rat telle que YB2/0. Les structures glycanniques étant de type biantennées, avec des chaînes courtes, une faible sialylation, des mannoses et GlcNAc du point d'attache terminaux non intercalaires, et  
30 une faible fucosylation.

Or, dans le cadre de la présente invention, nous avons découvert que l'avantage de présenter une forte affinité pour le CD16 peut encore être renforcé par des tests supplémentaires visant à choisir les anticorps qui induisent la production de cytokines..

5

Les deux caractéristiques précitées se complètent. En effet, la production de cytokine induite par les anticorps sélectionnés par le procédé de l'invention pourrait renforcer activité cytotoxique des anticorps. Le mécanisme d'action d'une telle activation tient probablement à une régulation positive autocrine des cellules effectrices. On peut postuler que les anticorps se lient au CD16 provoquant une activité cytotoxique mais également induisent la production d'IFN gamma qui au final peut conduire à augmenter encore davantage l'activité cytotoxique.

10

L'invention propose donc des anticorps qui présentent une activité jusqu'à 100 fois supérieure aux anticorps disponibles en thérapie. En particulier, l'invention apporte un anti-HLD-DR et un anti-CD20 significativement plus efficace que leur homologue respectif tel que le Remitogen® et le Rutixan®. La présente invention marque un tournant majeur dans le développement des anticorps à visée clinique en apportant une nouvelle génération dont les ED50 (expliciter) sont bien inférieures à celles des anticorps actuellement utilisés.

15

20

### Description

Ainsi, l'invention se rapporte à un anticorps monoclonal chimérique humanisés ou humain produit dans une lignée cellulaire sélectionnée pour ses propriétés de glycosylation du fragment Fc d'un anticorps, ou dont la structure glycannique a été modifiée ex vivo, ledit anticorps présentant un taux ADCC de type FcγRIII (CD16) supérieur à 60 %, 70%, 80 % ou de préférence supérieur à 90 % comparé au même anticorps produit dans une lignée CHO ou à un anticorps homologue disponible dans le commerce, caractérisé en ce qu'il présente une capacité à induire un taux de production

25

30

d'au moins une cytokine par une cellule effectrice du système immunitaire exprimant le récepteur CD16 supérieur à 60 %, 100 % ou de préférence supérieur à 200 % comparé au même anticorps produit dans une lignée CHO ou à un anticorps homologue disponible dans le commerce.

5

De préférence, cet anticorps présente un taux ADCC supérieure à 100 % à une concentration de 10ng/ml comparé au même anticorps produit dans une lignée CHO ou à un anticorps homologue disponible dans le commerce et un taux de production d'au moins une cytokine par une cellule effectrice du système immunitaire exprimant le

10

récepteur CD16 supérieur à 1000 % à une concentration de 10ng/ml comparé au même anticorps produit dans une lignée CHO ou à un anticorps homologue disponible dans le commerce.

Lesdites cytokines libérées sont des interleukines, des interférons et des facteurs de

15

nécrose tissulaire (TNF).

Ainsi, l'anticorps est sélectionné pour sa capacité d'induire la sécrétion d'au moins une cytokine choisie parmi IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10,...

20

TNF $\alpha$ , TGF $\beta$ , IP10 et IFN $\gamma$  par les cellules effectrices du système immunitaire exprimant le récepteur CD16.

De préférence, l'anticorps sélectionné a la capacité d'induire la sécrétion d' IFN $\gamma$  par les cellules effectrices du système immunitaire exprimant le récepteur CD16. Le taux d' IFN $\gamma$  sécrété reflète la qualité de l'anticorps fixé par le récepteur CD16 quant à son

25

intégrité (fonction Fc) et à sa capacité (site antigénique) de liaison à l'antigène. En outre, la sécrétion d' IFN $\gamma$  contribue à renforcer l'activité cytotoxique des cellules effectrices.

Les cellules effectrices peuvent exprimer un CD16 endogène ou être transformées. On entend par cellule transformée, une cellule modifiée génétiquement de sorte à exprimer un récepteur, en particulier le récepteur CD16.

- 5 Dans un mode de réalisation particulier, l'anticorps de l'invention est capable d'induire la sécrétion d'au moins une cytokine par une cellule leucocytaire, en particulier de la famille des NK (natural killer) ou par des cellules du groupe monocytes-macrophages. De préférence, on utilise pour la sélection des anticorps une lignée Jurkat transfectée avec un vecteur d'expression codant pour le récepteur CD16 comme cellule effectrice.
- 10 Cette lignée est particulièrement avantageuse car elle est immortalisée c'est à dire qu'elle se développe indéfiniment dans des milieux cultures et qu'elle permet d'obtenir des résultats reproductibles de par sa stabilité d'expression du CD16.

- En outre, l'anticorps peut être sélectionné après avoir été purifié et/ou modifié ex vivo
- 15 par modification de la structure glycanique du fragment Fc.

- La sélection peut se faire sur des anticorps produits par des cellules couramment utilisées pour la production d'anticorps thérapeutiques, telles que les lignées de myélomes de rat, en particulier YB2/0 et ses dérivés, les cellules lymphoblastoïdes
- 20 humaines, les cellules d'insectes et les cellules de myélomes murines. La sélection peut également être appliquée à l'évaluation d'anticorps produits par des plantes transgéniques ou de mammifères transgéniques. A cet effet, la production dans CHO sert de référence (CHO étant employée pour la production d'anticorps médicament) pour comparer et sélectionner les systèmes de production conduisant aux anticorps
- 25 selon l'invention. Une autre alternative consiste à effectuer la comparaison avec les anticorps disponibles dans le commerce, en particulier les anticorps en cours de développement, les anticorps ayant obtenus une AMM ou encore des anticorps dont les essais cliniques ont été arrêtés et qui se sont révélés peu efficaces et/ou produisant des effets secondaires indésirables aux doses administrées. En effet, comme indiqué
- 30 précédemment, les anticorps modifiés de l'invention sont jusqu'à 100 fois plus



efficaces pour activer l'ADCC des cellules effectrices du système immunitaires, ce qui implique des doses d'administration inférieures à celles pratiquées par les anticorps mentionnés précédemment.

5 L'anticorps de l'invention peut être produit dans des lignées cellulaires du type myélome de rat, notamment YB 2/0. Il peut être dirigé contre un antigène normal non ubiquitaire (exemple, l'anticorps est de spécificité anti- Rhésus du globule rouge humain), ou un antigène d'une cellule pathologique ou d'un organisme pathogène pour l'homme, en particulier contre un antigène d'une cellule cancéreuse. Par

10 Dans un aspect préféré, l'anticorps est un anti-HLA-DR. Cet anticorps présente un taux ADCC supérieure à 100 % à une concentration de 10 ng/ml et un taux de production d'IL-2 par une cellule effectrice du système immunitaire exprimant le récepteur CD16 supérieur jusqu'à 1000 % à une concentration de 10 ng/ml comparé au même anticorps exprimé dans la lignée CHO, lignée d'expression du Remitogen®.

15

L'anti-HLA-DR de l'invention peut être produit dans une lignée de myélome de rat, notamment YB2/0.

20 Dans un autre aspect préféré, l'anticorps de l'invention est un anti-CD20. Cet anticorps présente un taux ADCC supérieure à 100 % à une concentration de 10 ng/ml et un taux de production d'IL-2 par la cellule Jurkat CD16 supérieur jusqu'à 1000 % à une concentration de 10 ng/ml comparé au Rituxan®.

25 L'anti-CD20 de l'invention peut être produit dans une lignée de myélome de rat, notamment YB2/0.

D'autres anticorps peuvent être sélectionnés parmi les anti Ep-CAM, anti HER2, anti CD52, anti HER1, anti GD3, anti CA125, anti GD, anti GD2, anti CD-23 et anti ProteinC ; anti-KIR3DL2, anti-CD38, anti-CD30, anti-CD33, anti-CD44, des anti-

idiotypes spécifiques d'inhibiteurs par exemple de facteurs de coagulation, les anti-viral : HBV, HCV et RSV.

5 Dans un autre aspect, l'invention concerne l'utilisation d'un anticorps décrit ci-dessus pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement des cancers et des infections par des agents pathogènes.

10 Plus particulièrement, l'invention vise l'utilisation d'un anticorps Anti-HLA-DR ou anti-CD20 décrit plus haut pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement des cancers des cellules MHCII positives, notamment les lymphomes de cellules B, les leucémies aiguës de cellules B, le lymphome de Burkitt, le lymphome de Hodgkin, les leucémies myéloïdes, les lymphomes et leucémies de cellules T, les lymphomes non hodgkinien et les leucémies myéloïdes chroniques.

15 Dans un aspect préféré de l'invention, l'anticorps peut dans un premier temps être sélectionné pour son affinité au récepteur CD16 puis testé et sélectionné tel que décrit ci-dessus pour ses propriétés à induire la production d'une cytokine, notamment l'IL-2, par les cellules Jurkat CD16 ou d'IFN $\gamma$  par les cellules effectrices exprimant le CD16.

20 De tels anticorps possédant cette double propriété d'induire l'ADCC via le CD16 et d'induire la production de l'IL-2 conduise à une stimulation très importante de l'activité cytotoxique des cellules effectrices. Par exemple, cet anticorps peut être un anticorps listé ci-dessous produit dans toute lignée cellulaire et sélectionnée par les tests mentionnés ci-dessus. Il s'agit d'anticorps de seconde génération plus efficace que leur  
25 homologue disponible actuellement (voir tableau 1 ci-après).

Tableau 1

Nom et marque commerciale de l'anticorps	Société	cible	indication
Edrecolomab PANOREX	Centocor	anti Ep-CAM	colorectal cancer
Rituximab RITUXAN	Idec Licencié à Genentech/ Hoffman la roche	anti CD20	B cell lymphoma thrombocytopenia purpura
Trastuzumab HERCEPTIN	Genentech Licencié à Hoffman la roche/Immunogen	anti HER2	ovarian cancer
Palivizumab SYNAGIS	Medimmune Licencié à Abott		RSV
Alemtuzumab CAMPATH	BTG Licencié à Schering	anti CD52	leukemia
ibritumomab tiuxetan ZEVALIN	IDEC Licencié à Schering	anti CD20	NHL
Cetuximab IMC-C225	Merck /BMS / Imclone	anti HER1	cancers
Bevacizumab AVASTIN	Genentech/ Hoffman la roche	anti VEGF	cancers
Epratuzumab	Immunomedics/ Amgen	anti CD22	cancers: non hogkin lymphoma
Hu M195Mab	Protein Design Labs	ND	cancers
MDX-210	Immuno-Designed Molécules	ND	cancers

BEC2 Mitumomab	Imclone	anti GD3	cancers
Oregovomab <i>OVAREX</i>	Altarex	anti CA125	Ovarian cancer
Ecromeximab KW-2971	Kyowa-Hakko	anti GD	malignant melanoma
ABX-EGF	Abgenix	EGF	cancers
MDX010	Medarex	ND	Cancers
XTL 002	XTL biopharmaceuticals	ND	anti-viral : HCV
H11 SCFV	viventia biotech	ND	cancers
4B5	viventia biotech	anti GD2	Cancers
XTL 001	XTL biopharmaceuticals	ND	anti-viral : HBV
MDX-070	MEDAREX	Anti-PSMA	Prostate cancer
TNX-901	TANOX	anti CD-23	
IDEC-114	IDEC	inhibition ProteinC	non-Hodgkin lymphoma

L'invention porte également sur l'utilisation d'un anticorps décrit ci-dessus pour la  
 5 fabrication d'un médicament destiné à induire l'expression de TNF, IFN $\gamma$ , IP10 et IL-6  
 par les cellules effectrices naturelles du système immunitaire, ledit médicament étant  
 utile notamment pour le traitement du cancer et des infections.

## Exemple 1 : Anti-HLA-DR

### 1.1 TEST ADCC CD16

5 L'anticorps anti-HLA DR chimérique a été exprimé dans la cellule YB2/0 et dans CHO. Les anticorps chimériques anti-HLA-DR sont capables d'induire une activité cytotoxique de la cellule RAJI, exprimant à sa surface des antigènes HLA-DR. Pour ce faire, la même séquence codant pour une IgG1 spécifique de l'antigène HLA-DR est transfectée dans CHO et YB2/0. Les anticorps sont incubés avec les cellules RAJI  
10 (cibles) et les cellules Natural Killer (NK) humaines. L'activité cytotoxique des anticorps sur la cellule Raji (ADCC) a été évaluée après 16h d'incubation (voir figure 1).

Les deux anticorps anti-HLA-DR exprimés par YB2/0 (carré) ou CHO (triangle) induisent une lyse de la cellule Raji par ADCC. L'anticorps exprimé dans YB2/0  
15 s'avère plus cytotoxique que CHO surtout dans des conditions de faibles quantités d'effecteurs.

### 1.2 TEST IL-2

20 La même séquence codant pour une IgG1 spécifique de l'antigène HLA-DR est transfectée dans CHO et YB2/0. Les anticorps sont incubés avec les cellules RAJI (cible) et les cellules Jurkat CD16 (effecteurs) portant l'acide aminé phénylalanine (F) en position 158. La quantité de cytokines (IL2) sécrétée par Jurkat CD16 est mesurée par ELISA (voir figure 2).

25

Les anticorps anti-HLA DR induisent une forte sécrétion d'IL2 (cytokine). Comparativement, la sécrétion et donc le degré d'activation est supérieur lorsque l'anticorps est exprimé dans YB2/0 (carré) par rapport à CHO (triangle) à toutes les concentrations étudiées.

## REVENDICATIONS

- 5 1. Anticorps monoclonal chimérique ou humain produit dans une lignée cellulaire sélectionnée pour ses propriétés de glycosylation du fragment Fc d'un anticorps, ou dont la structure glycannique a été modifiée ex vivo, ledit anticorps présentant un taux ADCC de type FcγRIII (CD16) supérieur à 60 %, 70%, 80 % ou de préférence supérieur à 90 % comparé au même anticorps produit dans une lignée CHO ou à un
- 10 anticorps homologue disponible dans le commerce, caractérisé en ce qu'il présente une capacité à induire un taux de production d'au moins une cytokine par la cellule Jurkat CD16 ou une cellule effectrice du système immunitaire exprimant le récepteur CD16 supérieur à 60 %, 100 % ou de préférence supérieur à 200 % comparé au même anticorps produit dans une lignée CHO ou à un anticorps homologue disponible dans le
- 15 commerce.
2. Anticorps selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il présente un taux ADCC supérieure à 100 % à une concentration 10ng/ml comparé au même anticorps produit dans une lignée CHO ou à un anticorps homologue disponible dans le commerce et un
- 20 taux de production d'au moins une cytokine par une cellule effectrice du système immunitaire exprimant le récepteur CD16 supérieur à 1000 % à une concentration de 10ng/ml comparé au même anticorps produit dans une lignée CHO ou à un anticorps homologue disponible dans le commerce.
- 25 3. Anticorps selon l'une des revendications 1 à 2, caractérisé en ce que les cytokines libérées sont des interleukines.
4. Anticorps selon l'une des revendications 1 à 2, caractérisé en ce que les cytokines libérées sont des interférons.

5. Anticorps selon l'une des revendications 1 à 2, caractérisé en ce que les cytokines libérées sont des facteurs de nécrose tissulaire (TNF).
6. Anticorps selon l'une des revendications 1 à 2, caractérisé en ce que l'anticorps sélectionné a la capacité d'induire la sécrétion d'au moins une cytokine choisie parmi IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, TNF $\alpha$ , TGF $\beta$ , IP10 et IFN $\gamma$  par les cellules effectrices exprimant le récepteur CD16.
7. Anticorps selon la revendications 1 ou 2, caractérisé en ce que ce que l'anticorps sélectionné a la capacité d'induire la sécrétion d'IL-2 par les cellules effectrices du exprimant le récepteur CD16.
8. Anticorps selon la revendication 1, 2 ou 7, caractérisé en ce que la cellule effectrice est une cellule Jurkat exprimant le récepteur CD16 ou par une cellule leucocytaire, en particulier de la famille des NK (natural killer) ou par des cellules du groupe monocytes-macrophages.
9. Anticorps selon l'une des revendications 1 à 8, caractérisé en ce qu'il est produit dans lignée cellulaire du type myélome de rat, notamment YB 2/0.
10. Anticorps selon l'une des revendications 1 à 9, caractérisé en ce qu'il est dirigé contre un antigène d'une cellule pathologique ou d'un organisme pathogène pour l'homme, en particulier contre un antigène d'une cellule cancéreuse.
11. Anticorps selon la revendication 10, caractérisé en ce qu'il est de spécificité anti-Rhésus du globule rouge humain.
12. Anticorps selon la revendication 11, caractérisé en ce qu'il est un anti-HLA-DR.

13. Anticorps selon la revendication 12, caractérisé en ce qu'il présente un taux ADCC supérieure à 100 % à une concentration de 10 ng/ml et un taux de production d'IL-2 par une cellule effectrice du système immunitaire exprimant le récepteur CD16 supérieur jusqu'à 1000 % à une concentration de 10 ng/ml comparé au même anticorps exprimé dans la lignée CHO, lignée d'expression du Remitogen®.
14. Anticorps selon la revendication 12, caractérisé en ce qu'il est produit dans une lignée de myélome de rat, notamment YB2/0.
15. Anticorps selon la revendication 10, caractérisé en ce qu'il est un anti-CD20.
16. Anticorps selon la revendication 15, caractérisé en ce qu'il présente un taux ADCC supérieure à 100 % à une concentration de 10 ng/ml et un taux de production d'IL-2 par une cellule effectrice du système immunitaire exprimant le récepteur CD16 supérieur jusqu'à 1000 % à une concentration de 10 ng/ml comparé au Rituxan®.
17. Anticorps selon la revendication 15, caractérisé en ce qu'il est produit dans une lignée de myélome de rat, notamment YB2/0.
18. Anticorps selon la revendication 10, caractérisé en ce qu'il est sélectionné parmi les anti Ep-CAM, anti HER2, anti CD52, anti HER1, anti GD3, anti CA125, anti GD, anti GD2, anti CD-23 et anti ProteinC ; les anti-viral : HBV, HCV et RSV, anti-KIR3DL2, anti-CD38, anti-CD30, anti-CD33, anti-CD44, des anti-idiotypes spécifiques d'inhibiteurs par exemple de facteurs de coagulation.
19. Utilisation d'un anticorps selon l'une des revendications 1 à 18 pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement des cancers et des infections par des agents pathogènes.



20. Utilisation d'un anticorps selon l'une des revendications 12 à 14 et 15 à 17 pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement des cancers des cellules MHC de classe II positives, notamment les lymphomes de cellules B, les leucémies aiguës de cellules B, le lymphome de Burkitt, le lymphome de Hodgkin, les leucémies myéloïdes, les lymphomes et leucémies de cellules T, les lymphomes non hodgkinien et les leucémies myéloïdes chroniques.

21. Utilisation d'un anticorps selon l'une des revendications 12 à 14 et 15 à 17 pour la fabrication d'un médicament destiné à induire l'expression de TNF, IFN $\gamma$ , IP10 et IL-6 par les cellules effectrices naturelles du système immunitaire, ledit médicament étant utile notamment pour le traitement du cancer et des infections.

TOX 324 02/055 RATIO EFF/CIBLE 3/1

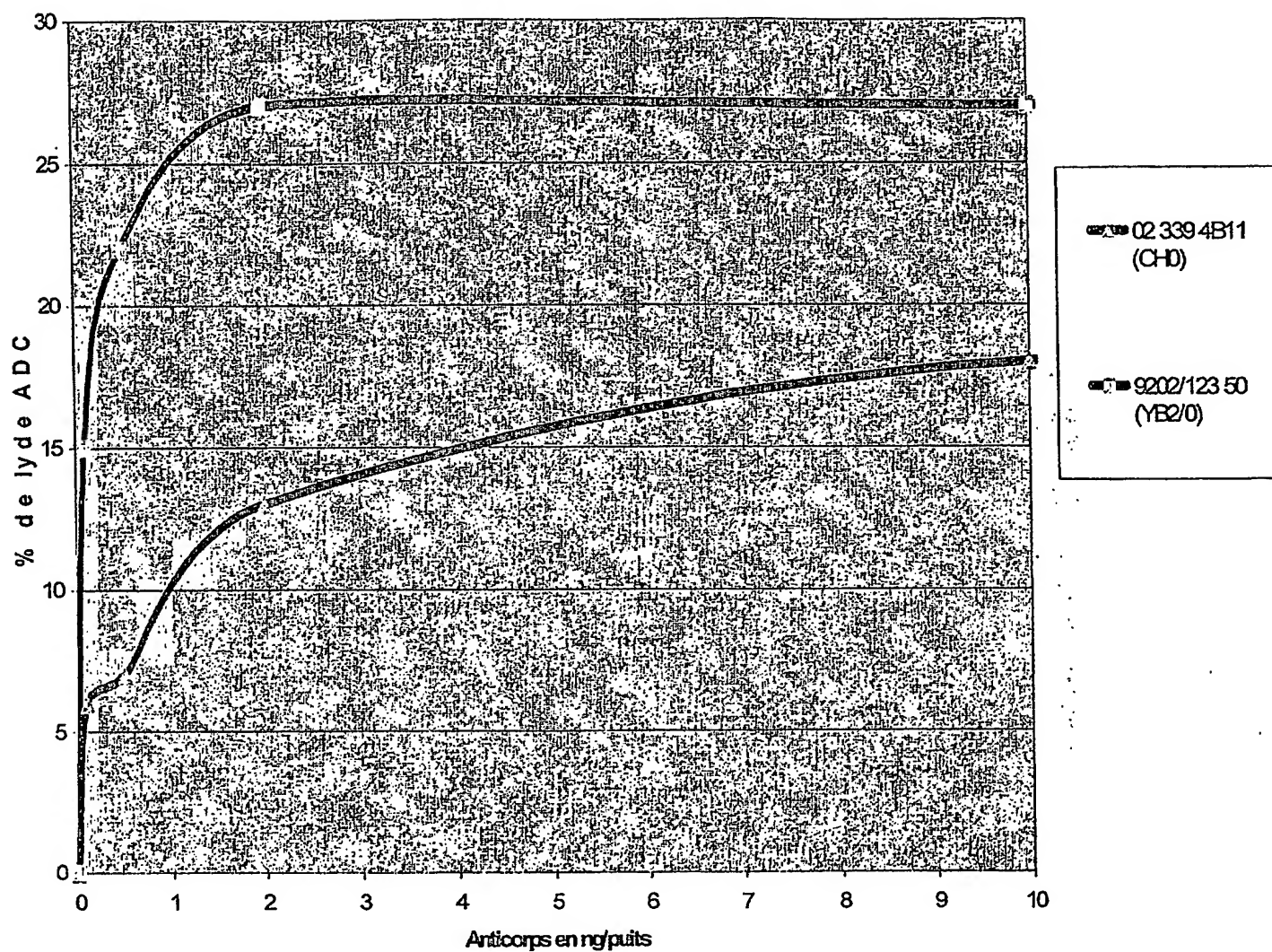


FIGURE 1

TOX 324 03/056

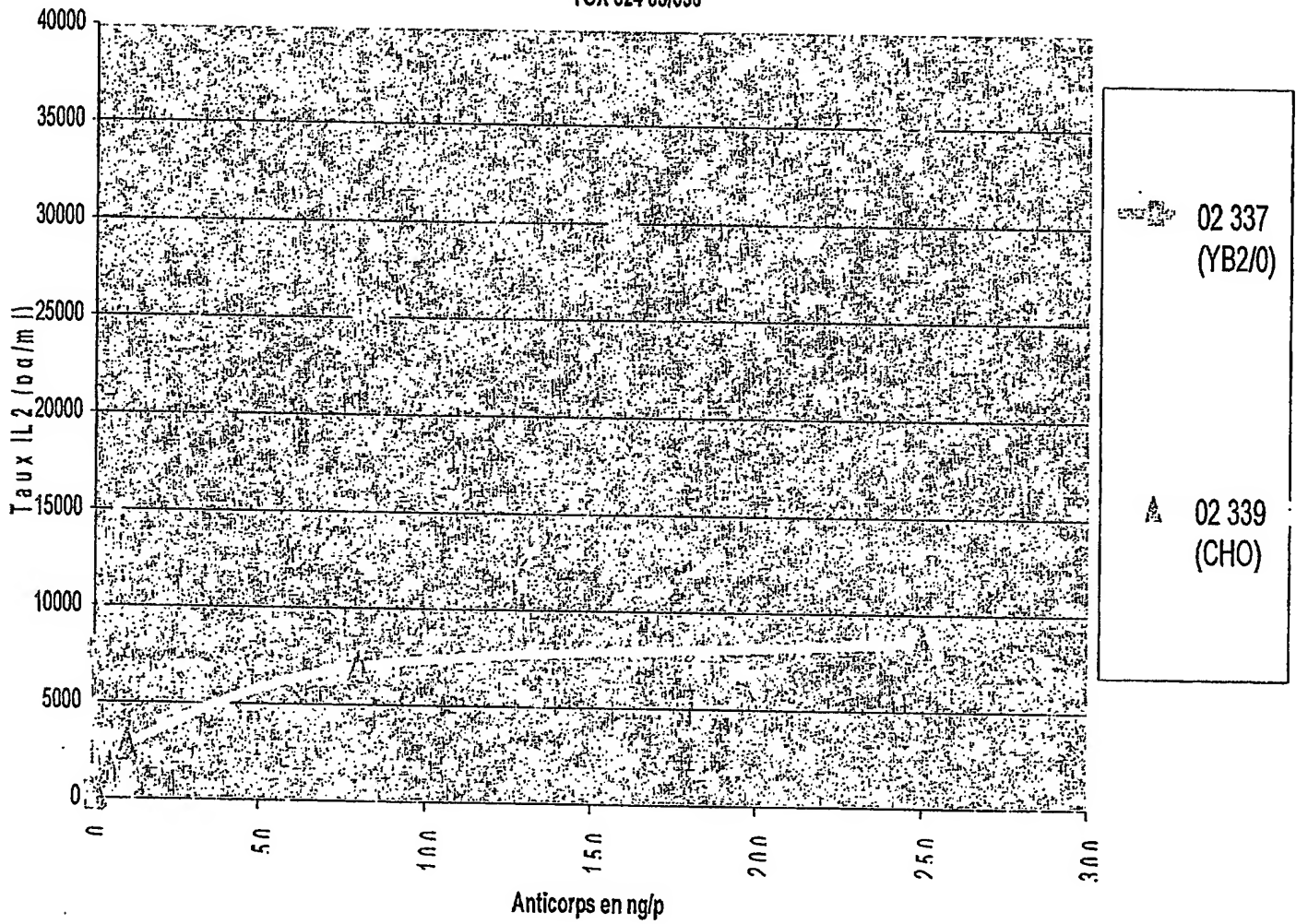


FIGURE 2

DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg

75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

**DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S)** Page N° 1.../2...

(À fournir dans le cas où les demandeurs et les inventeurs ne sont pas les mêmes personnes)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DD 113 W / 27060

Vos références pour ce dossier (facultatif)	240696 NT
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL	0307067

**TITRE DE L'INVENTION** (200 caractères ou espaces maximum)

ANTICORPS POUR ADCC ET INDUISANT LA PRODUCTION DE CYTOKINES.

**LE(S) DEMANDEUR(S) :**

LABORATOIRE FRANCAIS DU FRACTIONNEMENT ET DES BIOTECHNOLOGIES : Zone d'activité de Courtaboeuf 3, avenue des Tropiques 91940 LES ULIS FRANCE - FRANCE.

**DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :**

<input checked="" type="checkbox"/> 1	Nom	de ROMEUF Christophe	
	Prénoms		
	Adresse	Rue	116, rue de la Bassée
		Code postal et ville	59000 LILLE FR
	Société d'appartenance (facultatif)		
<input checked="" type="checkbox"/> 2	Nom	GAUCHER Christine	
	Prénoms		
	Adresse	Rue	32, rue des Mésanges
		Code postal et ville	59320 SEQUEDIN FR
	Société d'appartenance (facultatif)		
<input checked="" type="checkbox"/> 3	Nom	GLACET Arnaud	
	Prénoms		
	Adresse	Rue	46 rue Ringot
		Code postal et ville	59147 GONDECOURT FR
	Société d'appartenance (facultatif)		

S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez plusieurs formulaires. Indiquez en haut à droite le N° de la page suivi du nombre de pages.

**DATE ET SIGNATURE(S)**  
**DU (DES) DEMANDEUR(S)**  
**OU DU MANDATAIRE**  
(Nom et qualité du signataire)

*[Signature]* 321159

ÉPARTEMENT DES BREVETS

6 bis, rue de Saint Pétersbourg  
5800 Paris Cedex 08  
téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

**DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S)** Page N° 2...2...  
(À fournir dans le cas où les demandeurs et  
les inventeurs ne sont pas les mêmes personnes)



Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 W / 270601

<b>Vos références pour ce dossier (facultatif)</b>	
<b>N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL</b>	
<b>TITRE DE L'INVENTION</b> (200 caractères ou espaces maximum)	0307067

ANTICORPS POUR ADCC ET INDUISANT LA PRODUCTION DE CYTOKINES.

**LE(S) DEMANDEUR(S) :**

LABORATOIRE FRANCAIS DU FRACTIONNEMENT ET DES BIOTECHNOLOGIES : Zone d'activité de Courtaboeuf 3  
avenue des Tropiques 91940 LES ULIS FRANCE - FRANCE

**DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :**

<b>1</b>	Nom	
	Prénoms	
Adresse	Rue	DHAINAUT Frédéric
	Code postal et ville	14, rue de Pourdan
Société d'appartenance (facultatif)		91870 BOISSY LE SEC FR
<b>2</b>	Nom	
	Prénoms	
Adresse	Rue	BOUREL Dominique
	Code postal et ville	125, avenue Germaine
Société d'appartenance (facultatif)		59110 LA MADELEINE FR
<b>3</b>	Nom	
	Prénoms	
Adresse	Rue	
	Code postal et ville	
Société d'appartenance (facultatif)		

S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez plusieurs formulaires. Indiquez en haut à droite le N° de la page suivi du nombre de pages.

**DATE ET SIGNATURE(S)**  
**DU (DES) DEMANDEUR(S)**  
**OU DU MANDATAIRE**  
(Nom et qualité du signataire)

*Signature* 921169

PCT Application

**FR0302713**



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**